

Rec'd PCT/PTO 18 MAY 2005

PCT/JP2003/015529

PATENT COOPERATION TREATY

10/535277

F000289W501

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

MITSUI CHEMICALS, INC.
INTELLECTUAL PROPERTY DIVISION
580-32, Nagaura
Sodegaura-shi, Chiba 299-0265
JapanDate of mailing (day/month/year)
12 March 2004 (12.03.2004)Applicant's or agent's file reference
F000284International application No.
PCT/JP2003/015529 ✓International publication date (day/month/year)
Not yet published

Applicant

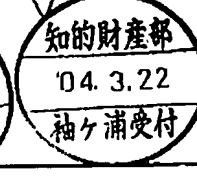
MITSUI CHEMICALS, INC. et al

IMPORTANT NOTIFICATION

International filing date (day/month/year)
04 December 2003 (04.12.2003) ✓Priority date (day/month/year)
09 December 2002 (09.12.2002)

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable) An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
09 Dec 2002 (09.12.2002)	2002-357209	JP	03 Febr 2004 (03.02.2004)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 338.90.90

Authorized officer

taïeb AKREMI (Fax 338 9090)

Telephone No. (41-22) 338 9415

L0292

10/535277 #2

PCT/JP03/15529

Rec'd PCT/PTO 18 MAY 2005

04.12.03

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

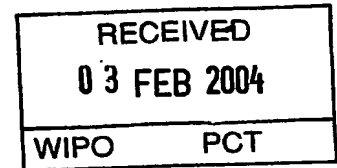
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2002年12月 9日

出願番号
Application Number: 特願2002-357209
[ST. 10/C]: [JP2002-357209]

出願人
Applicant(s): 三井化学株式会社

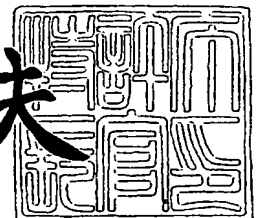


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 1月15日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2003-3111952

【書類名】 特許願
【整理番号】 P0001678
【提出日】 平成14年12月 9日
【あて先】 特許庁長官 殿
【発明者】

【住所又は居所】 千葉県袖ヶ浦市長浦 580-32 三井化学株式会社内

【氏名】 小松 弘典

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県袖ヶ浦市長浦 580-32 三井化学株式会社内

【氏名】 檜原 真弓

【特許出願人】

【識別番号】 000005887

【氏名又は名称】 三井化学株式会社

【代表者】 中西 宏幸

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005278

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

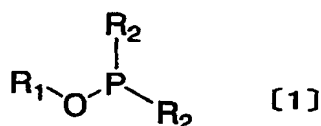
【書類名】 明細書

【発明の名称】 フォスフォロアミダイトの製造方法

【特許請求の範囲】

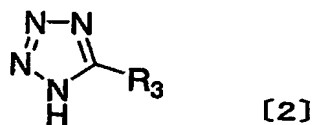
【請求項 1】 一般式〔1〕〔化 1〕

【化 1】



(式中、R 1 は炭素数 1 から 4 のアルキル基、シアノ基で置換された炭素数 1 から 4 のアルキル基またはシリル基で置換された炭素数 1 から 4 のアルキル基を表し、R 2 は炭素数 2 から 5 のアルキル基で置換されたアミノ基または炭素数 4 から 7 の脂環状アミノ基を表す。) で表される化合物を反応剤としてフォスフォロアミダイトを製造する方法であって、一般式〔2〕〔化 2〕

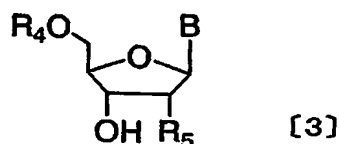
【化 2】



(式中、R 3 は炭素数 1 から 6 のアルキル基、炭素数 1 から 6 の脂環状アルキル基、炭素数 1 から 4 のアルキル基で置換されたアリール基または置換されていないアリール基を表す。) で表される置換テトラゾールを反応活性化剤として用いることを特徴とする製造法。

【請求項 2】 一般式〔3〕〔化 3〕

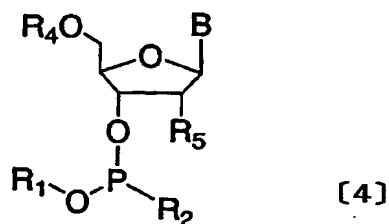
【化 3】



(式中、R 4 は水酸基の保護基を、R 5 は水素原子、ハロゲン原子、炭素数 1 から 4 のアルキル基または置換された水酸基を、B は核酸塩基または保護された核酸塩基を表す。) で表されるヌクレオシド誘導体を原料とし、一般式〔4〕〔化

4]

【化4】



(式中、R1、R2、R4およびR5は前述と同義である。) で表されるフッ素アミダイトを合成することを特徴とする請求項1に記載の製造法。

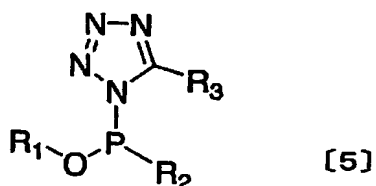
【請求項3】 一般式〔2〕中、R3がフェニル基である請求項1又は2に記載の製造法。

【請求項4】 一般式〔1〕中、R1がシアノエチル基であり、R2がジイソプロピルアミノ基である請求項1から3の何れか一項に記載の製造法。

【請求項5】 一般式〔3〕および〔4〕中、R4が4, 4'-ジメトキシトリチル基であり、R5が水素原子であり、Bが1-チミン基、N4-ベンゾイル-1-シトシン基、N6-ベンゾイル-9-アデニン基またはN2-イソブチル-9-グアニン基である請求項1から4の何れか一項に記載の製造法。

【請求項6】 一般式〔5〕

【化5】



(式中、R1、R2およびR3は前述と同義である。) で表される置換テトラゾール誘導体。

【発明の詳細な説明】

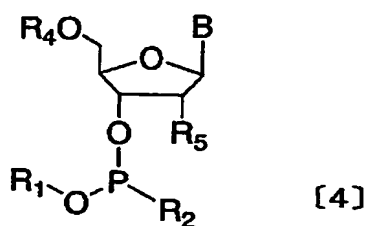
【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はフッ素アミダイトの製造法に関する。さらに詳しくは、本発明は、一般式〔4〕

【0002】

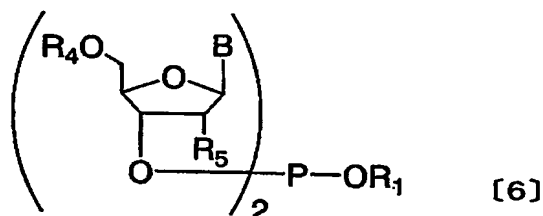
【化6】



(式中、R 1は炭素数1から4のアルキル基、シアノ基で置換された炭素数1から4のアルキル基またはシリル基で置換された炭素数1から4のアルキル基を表し、R 2は炭素数2から5のアルキル基で置換されたアミノ基または炭素数4から7の脂環状アミノ基を表し、R 4は水酸基の保護基を、R 5は水素原子、ハロゲン原子、炭素数1から4のアルキル基または置換された水酸基を、Bは核酸塩基または保護された核酸塩基を表す。) で表されるフォスフォロアミダイト製造の際に、一般式〔6〕〔化7〕

【0003】

【化7】



(式中、R 1、R 2、R 4およびR 5は前述と同義である。) で表されるトリフォスファイトなる副成物の生成量を減らし、フォスフォロアミダイト生成の選択性を向上するように開発された反応活性化剤に関する。

【0004】

【従来の技術】

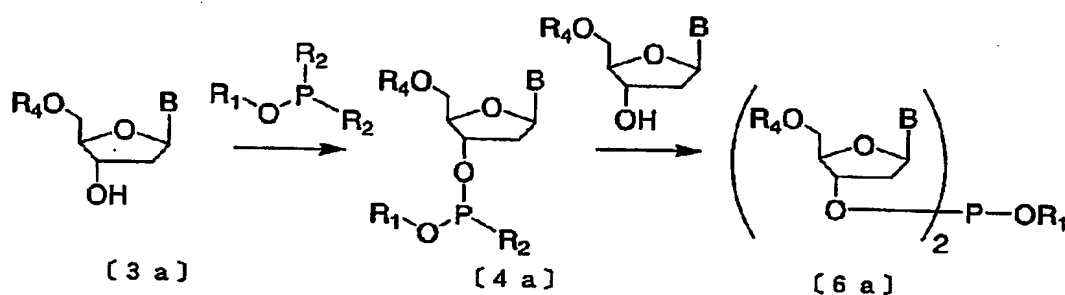
近年、ゲノム創薬の進展に伴い、アンチセンスDNA医薬などが急速に開発されている。それに伴い、原料となるDNAオリゴマー、さらにオリゴマーの原料となるフォスフォロアミダイト類の需要が増大している。フォスフォロアミダイト類を医薬品の用途として用いるためには、非常に高純度の製品を製造する必要がある。

【0005】

これまでフォスフォロアミダイト類は、たとえばNucleic Acids Res, 12, p4051 (1984) [またはNucleic Acids Res, 18, p177 (1987)] に記載の方法のように、フォスフォロジアミダイトを反応試剤、テトラゾールを反応活性化剤として用いて、ヌクレオシドの水酸基と反応させる方法で合成できる。この報文では、反応で生成する不純物について詳しく解析している。主要な不純物のうち、水分に起因する分解物については反応系内の水分量を減らすことにより低減できる。しかし、反応で用いた活性化剤の性質によって生成する副成物を低減することは難しい。式1 [化8]

【0006】

【化8】



(式中、R1はメチル基またはシアノエチル基を、R2はジイソプロピルアミノ基、R4は4, 4'-ジメトキシトリチル基を、Bは1-チミニル基を表す。) に示した通り、過剰反応物(一般式〔6a〕で表されるトリフォスファイト)は、目的とする一般式〔6a〕で表されるフォスフォロアミダイトがさらに一般式〔6a〕で表される原料ヌクレオシドと反応することで生成する。混入比率は1% (NMR解析結果) で少ないとの記述があるが、アンチセンス医薬などの医薬品用途ではさらに低減する必要がある。フォスフォロアミダイト類は不安定で精製は難しいため、反応の段階で副成物を極力低減することが必要とされる。US 4415732に記載されているように、テトラゾールは、元来オリゴマーのようなトリフォスファイトの合成を目的として開発されたため、一般式〔4a〕で表されるフォスフォロアミダイトから一般式〔6a〕で表されるトリフォスファ

イトに至る反応は非常に速い。現在でもオリゴマー合成に多用される活性化剤である。

【0007】

Org. Process Res. Dev. 4, p175 (2000) または WO9962922 に記載の方法は、テトラゾールがコスト高という欠点を改善するため、ピリジントリフルオロ酢酸塩を用いている。しかしながら、テトラゾールと同様にオリゴマー合成への有用性が記述されているように、トリフォスファイトの生成能は高い。

【0008】

テトラゾールに代わる数多くの活性化剤が報告されているが、オリゴマー合成を固相合成で行うために、できるだけ短時間でトリフォスファイトを形成するようにデザインされている。そのため、一般式〔6a〕で表されるトリフォスファイトの副成量を低減することが期待されている一般式〔4a〕で表されるフォスフォロアミダイトの製造には不向きであった。典型的な例が Tetrahedron Lett. (24) p3171 (1983) に記載されている。この報文で報告されている 5-(4-ニトロフェニル) テトラゾールは、テトラゾールの反応速度を大きく上回るように設計されており、非常に効率的にトリフォスファイトを生成する。また、フェニルテトラゾールを含む他の置換テトラゾール類も、トリフォスファイト合成の活性化剤として図中に例示されているが、これらに関する記述やデータは記されていない。

このように、一般式〔6a〕で表されるトリフォスファイトへの反応は進行しにくく、一般式〔4a〕で表されるフォスフォロアミダイトを選択的に合成できるような活性化剤は開発されていなかった。

【0009】

【特許文献1】 US4415732

【0010】

【特許文献2】 WO9962922

【0011】

【非特許文献1】 Nucleic Acids Res, 12, p4051 (1

984)

【0012】

【非特許文献2】Nucleic Acids Res, 18, p177 (1987)

【0013】

【非特許文献3】Org. Process Res. Dev. 4, p175 (2000)

【0014】

【非特許文献4】Tetrahedron Lett. (24) p3171 (1983)

【0015】

【発明が解決しようとする課題】

従来の問題点を鑑み、効率的で副反応の少ないフォスフォロアミダイト製造法を提供することである。

【0016】

【課題を解決するための手段】

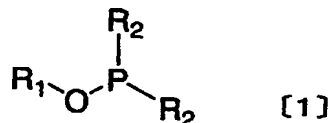
本発明者らは上記課題について鋭意検討した結果、5-フェニルテトラゾールが選択性良くフォスフォロアミダイトを生成することを見出し、本発明を完成した。

即ち、本発明は、

[1] 一般式〔1〕〔化9〕

【0017】

【化9】

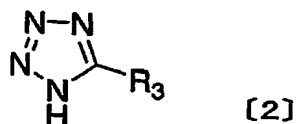


(式中、R1は炭素数1から4のアルキル基、シアノ基で置換された炭素数1から4のアルキル基またはシリル基で置換された炭素数1から4のアルキル基を表し、R2は炭素数2から5のアルキル基で置換されたアミノ基または炭素数4か

ら7の脂環状アミノ基を表す。)で表される化合物を反応剤としてフッ素化アミダイトを製造する方法であって、一般式〔2〕〔化10〕

【0018】

【化10】

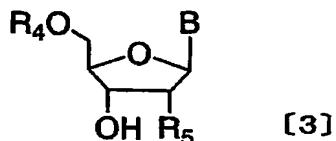


(式中、R3は炭素数1から6のアルキル基、炭素数1から6の脂環状アルキル基、炭素数1から4のアルキル基で置換されたアリール基または置換されていないアリール基を表す。)で表される置換テトラゾールを反応活性化剤として用いることを特徴とする製造法であり、

〔2〕一般式〔3〕〔化11〕

【0019】

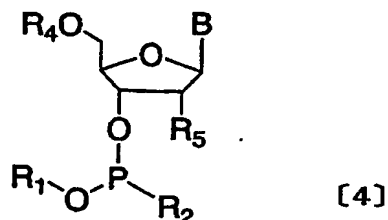
【化11】



(式中、R4は水酸基の保護基を、R5は水素原子、ハロゲン原子、炭素数1から4のアルキル基または置換された水酸基を、Bは核酸塩基または保護された核酸塩基を表す。)で表されるヌクレオシド誘導体を原料とし、一般式〔4〕〔化12〕

【0020】

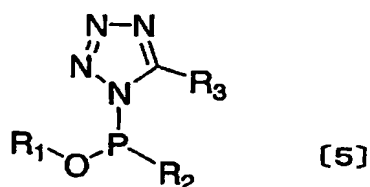
【化12】



(式中、R1、R2、R4およびR5は前述と同義である。)で表されるフッ素化アミダイトを合成する際に、一般式〔5〕〔化13〕

【0021】

【化13】



(式中、R1、R2、R4およびR5は前述と同義である。) で表されるトリフオスファイトの生成を抑えることを特徴とする [1] に記載の製造法であり、
[3] 一般式 [2] 中、R3がフェニル基である [1] 又は [2] に記載の製造法であり、

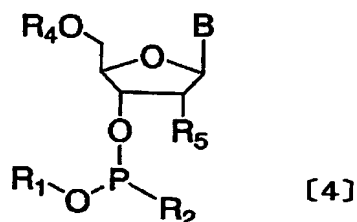
[4] 一般式 [1] 中、R1がシアノエチル基であり、R2がジイソプロピルアミノ基である [1] から [3] の何れか一項に記載の製造法であり、

[5] 一般式 [3] および [4] 中、R4が4, 4'-ジメトキシトリチル基であり、R5が水素原子であり、Bが1-チミン基、N4-ベンゾイル-1-シトシン基、N6-ベンゾイル-9-アデニン基またはN2-イソブチリル-9-グアニン基である [1] から [4] の何れか一項に記載の製造法であり、

[6] 一般式 [4] [化14]

【0022】

【化14】



(式中、R1、R2およびR3は前述と同義である。) で表される置換テトラノール誘導体である。

【0023】

【発明実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

一般式 [1] で表されるフォスフォロジアミダイト等において、R1における

炭素数1から4のアルキル基とは、たとえばメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、シクロプロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基などがあげられる。シアノ基で置換された炭素数1から4のアルキル基とは、たとえば2-シアノエチル基、2-シアノプロピル基、2-シアノシクロプロピル基、2-シアノブチル基、2-シアノ-2-メチルプロピル基などがあげられるがこれらに限定されるものではない。R1におけるシリル基で置換された炭素数1から4のアルキル基とは、たとえば2-トリメチルシリルエチル基、2-トリメチルシリルプロピル基、2-トリメチルシリルブチル基、2-トリメチルシリル-2-メチルプロピル基、2-トリエチルシリルエチル基、2-トリエチルシリルプロピル基、2-トリエチルシリルブチル基、2-トリエチルシリル-2-メチルプロピル基、2-トリイソプロピルシリルブチル基、2-トリイソプロピルシリル-2-メチルプロピル基、2-トリイソプロピルシリルエチル基、2-トリイソプロピルシリルプロピル基、2-トリイソプロピルシリルブチル基、2-トリイソプロピルシリル-2-メチルプロピル基、2-イソプロピルブチル基、2-トリイソプロピルシリル-2-メチルプロピル基、2-(*tert*-ブチルジメチルシリル)エチル基、2-(*tert*-ブチルジメチルシリル)プロピル基、2-(*tert*-ブチルジメチルシリル)ブチル基、2-(*tert*-ブチルジメチルシリル)-2-メチルプロピル基などがあげられるがこれらに限定されるものではない。R2における炭素数2から5のアルキル基で置換されたアミノ基とは、たとえばジエチルアミノ基、エチル(イソプロピル)アミノ基、ジ(*n*-プロピル)アミノ基、ジイソプロピルアミノ基、ジシクロプロピルアミノ基、ジ(*n*-ブチル)アミノ基、ジ(*sec*-ブチル)アミノ基、ジ(イソブチル)アミノ基、ジ(*tert*-ブチル)アミノ基、ジ(*n*-ペンチル)アミノ基、ジ(イソペンチル)アミノ基、ジ(ネオペンチル)アミノ基、ジシクロペンチルアミノ基などがあえられるがこれらに限定されるものではない。R2における炭素数4から7の脂環状アミノ基とは、たとえばピロリジノ基、2-メチルピロリジノ基、2,4-ジメチルピロリジノ基、ペリジノ基、ヘプタメチレンイミノ基などがあげられるがこれらに限定されるものではない。

【0024】

一般式〔2〕で表される置換テトラゾール等において、R3における炭素数1から6のアルキル基とは、たとえばメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ペンチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、*sec*-ペンチル基、*tert*-アミル基、*n*-ヘキシル基、2-ヘキシル基、2,3-ジメチル-2-ブチル基、3,3-ジメチル-1-ブチル基、3,3-ジメチル-2-ブチル基、2-エチル-1-ブチル基、3-ヘキシル基、2-メチル-1-ペンチル基、2-メチル-2-ペンチル基、2-メチル-3-ペンチル基、3-メチル-1-ペンチル基、3-メチル-2-ペンチル基、3-メチル-3-ペンチル基、4-メチル-1-ペンチル基、4-メチル-2-ペンチル基などがあげられる。

R3における炭素数1から6の脂環状アルキル基とは、たとえばシクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基などがあげられる。

R3における炭素数1から4のアルキル基で置換されたアリール基とは、たとえば2-メチルフェニル基、2-エチルフェニル基、2-イソプロピルフェニル基、2-(2-ブチル)フェニル基、2-(*tert*-ブチル)フェニル基、3-メチルフェニル基、3-エチルフェニル基、3-イソプロピルフェニル基、3-(2-ブチル)フェニル基、3-(*tert*-ブチル)フェニル基、4-メチルフェニル基、4-エチルフェニル基、4-イソプロピルフェニル基、4-(2-ブチル)フェニル基、4-(*tert*-ブチル)フェニル基、2,6-ジメチルフェニル基、2,6-ジエチルフェニル基、2,6-ジイソプロピルフェニル基、2,6-ビス(2-ブチル)フェニル基、2,6-ビス(*tert*-ブチル)フェニル基、3-メチル-2-フルフリル基、3-エチル-2-フルフリル基、3-イソプロピル-2-フルフリル基、3-(2-ブチル)-2-フルフリル基、3-(*tert*-ブチル)-2-フルフリル基、4-メチル-2-フルフリル基、4-エチル-2-フルフリル基、4-イソプロピル-2-フルフリル基、4-(2-ブチル)-2-フルフリル基、4-(*tert*-ブチル)-2-フルフリル基、3,5-ジメチル-2-フルフリル基などがあげられるがこれらに限定されるものではない。R3における置換されていないアリール基とは、たとえば

フェニル基、2-フルフリル基、3-フルフリル基、2-チオフェニル基、3-チオフェニル基などがあげられるがこれらに限定されるものではない。一般式〔2〕で表される置換テトラゾールとしては、特に5-フェニル-1H-テトラゾールが好ましい。これら置換テトラゾールは、塩基との塩として反応に加えることもできるし、そのまま加えても良い。塩を形成する塩基としては、有機塩基が好ましく、たとえばトリエチルアミン、エチルジイソプロピルアミン、トリ(n-ブチル)アミン、1-メチルピペリジン、1-メチルピロリジンなどの3級アミン類あるいはジエチルアミン、ジイソプロピルアミン、ジ(n-ブチル)アミン、ピロリジン、ピペリジンなどの2級アミンがあげられるがこれらに限定されるものではない。

【0025】

一般式〔3〕で表されるヌクレオシド誘導体において、R₄における水酸基の保護基とは、メチル基、エチル基、イソプロピル基、n-ブチル基、i-ブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、ベンジル基、2-メトキシベンジル基、3-メトキシベンジル基、4-メトキシベンジル基、2-メチルベンジル基、3-メチルベンジル基、4-メチルベンジル基、メトキシエチル基、エトキシエチル基、ベンジルオキシメチル基、ベンジルオキシエチル基、アセトキシメチル基、アセトキシエチル基、ベンゾイルオキシメチル基、ベンゾイルオキシエチル基、メトキシエトキシエチル基、プロパルギル基、アリル基等のアルキル基またはアルキル基の先にさらに置換されたアルキル基、フェニル基、2-メトキシフェニル基、3-メトキシフェニル基、4-メトキシフェニル基、4-フェニルフェニル基、2-ピリジニル基、3-ピリジニル基、4-ピリジニル基等のアリール基、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ベンゾイル基、2-メトキシベンゾイル基、3-メトキシベンゾイル基、4-メトキシベンゾイル基、2-メチルベンゾイル基、3-メチルベンゾイル基、4-メチルベンゾイル基、2-ニトロベンゾイル基、3-ニトロベンゾイル基、4-ニトロベンゾイル基、4-フェニルベンゾイル基、2-クロロベンゾイル基、3-クロロベンゾイル基、4-クロロベンゾイル基などのアシル基、アミノカルボニル基、ジメチルアミノカルボニル基、メチルアミノカルボニル基、エチルアミノカルボニル基、ジエチルアミノカル

ボニル基、フェニルアミノカルボニル基などのウレタン基、メタンスルホニル基、エタンスルホニル基、ベンゼンスルホニル基、2-メチルベンゼンスルホニル基、3-メチルベンゼンスルホニル基、4-メチルベンゼンスルホニル基、トリフルオロメタンスルホニル基、トリクロロメタンスルホニル基等のスルホン酸エステル基、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、t-ブチルジメチルシリル基、t-ブチルジフェニルシリル基などのシリル基、トリチル基、4-メトキシトリチル基、4, 4'-ジメトキシトリチル基などのトリチル基があげられる。

【0026】

R5におけるハロゲン原子とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子を表す。R5における炭素数1から4のアルキル基とは、たとえばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、シクロプロピル基、n-ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基などがあげられる。

【0027】

R5における置換された水酸基とは、カルボン酸エステル、スルホン酸エステル、エーテル、ウレタン、シリル基などの一般的な水酸基の保護基となりうる置換基により置換された水酸基を表す。水酸基の保護基の例としては、たとえばメチル基、エチル基、イソプロピル基、n-ブチル基、i-ブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、ベンジル基、2-メトキシベンジル基、3-メトキシベンジル基、4-メトキシベンジル基、2-メチルベンジル基、3-メチルベンジル基、4-メチルベンジル基、メトキシエチル基、エトキシエチル基、ベンジルオキシメチル基、ベンジルオキシエチル基、アセトキシメチル基、アセトキシエチル基、ベンゾイルオキシメチル基、ベンゾイルオキシエチル基、メトキシエトキシエチル基、プロパルギル基、アリル基等のアルキル基またはアルキル基の先にさらに置換されたアルキル基、フェニル基、2-メトキシフェニル基、3-メトキシフェニル基、4-メトキシフェニル基、4-フェニルフェニル基、2-ピリジニル基、3-ピリジニル基、4-ピリジニル基等のアリアル基、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ベンゾイル基、2-メトキシベンゾイル基、3-メトキシベンゾイル基、4-メトキシベンゾイル基、2-メチルベンゾイル基、3-

メチルベンゾイル基、4-メチルベンゾイル基、2-ニトロベンゾイル基、3-ニトロベンゾイル基、4-ニトロベンゾイル基、4-フェニルベンゾイル基、2-クロロベンゾイル基、3-クロロベンゾイル基、4-クロロベンゾイル基などのアシル基、アミノカルボニル基、ジメチルアミノカルボニル基、メチルアミノカルボニル基、エチルアミノカルボニル基、ジエチルアミノカルボニル基、フェニルアミノカルボニル基などのウレタン基、メタンスルホニル基、エタンスルホニル基、ベンゼンスルホニル基、2-メチルベンゼンスルホニル基、3-メチルベンゼンスルホニル基、4-メチルベンゼンスルホニル基、トリフルオロメタンスルホニル基、トリクロロメタンスルホニル基等のスルホン酸エステル基、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、t-ブチルジメチルシリル基、t-ブチルジフェニルシリル基などのシリル基が挙げられる。

【0028】

R3の置換された水酸基の例としてはたとえば、メトキシ基、エトキシ基、イソプロピルオキシ基、n-ブチルオキシ基、i-ブチルオキシ基、t-ブチルオキシ基、ペンチルオキシ基、ベンジルオキシ基、2-メトキシベンジルオキシ基、3-メトキシベンジルオキシ基、4-メトキシベンジルオキシ基、2-メチルベンジルオキシ基、3-メチルベンジルオキシ基、4-メチルベンジルオキシ基、メトキシエチルオキシ基、エトキシエチルオキシ基、ベンジルオキシメトキシ基、ベンジルオキシエトキシ基、アセトキシメトキシ基、アセトキシエトキシ基、ベンゾイルオキシメトキシ基、ベンゾイルオキシエトキシ基、メトキシエトキシエトキシ基、プロパルギルオキシ基、アリルオキシ基、フェニルオキシ基、2-メトキシフェニルオキシ基、3-メトキシフェニルオキシ基、4-メトキシフェニルオキシ基、4-フェニルフェニルオキシ基、2-ピリジニルオキシ基、3-ピリジニルオキシ基、4-ピリジニルオキシ基、ホルミルオキシ基、アセチルオキシ基、プロピオニルオキシ基、ベンゾイルオキシ基、2-メトキシベンゾイルオキシ基、3-メトキシベンゾイルオキシ基、4-メトキシベンゾイルオキシ基、2-メチルベンゾイルオキシ基、3-メチルベンゾイルオキシ基、4-メチルベンゾイルオキシ基、2-ニトロベンゾイルオキシ基、3-ニトロベンゾイルオキシ基、4-ニトロベンゾイルオキシ基、4-フェニルベンゾイルオキシ基、

2-クロロベンゾイルオキシ基、3-クロロベンゾイルオキシ基、4-クロロベンゾイルオキシ基、アミノカルボニルオキシ基、ジメチルアミノカルボニルオキシ基、メチルアミノカルボニルオキシ基、エチルアミノカルボニルオキシ基、ジエチルアミノカルボニルオキシ基、フェニルアミノカルボニルオキシ基、メタンスルホニルオキシ基、エタンスルホニルオキシ基、ベンゼンスルホニルオキシ基、2-メチルベンゼンスルホニルオキシ基、3-メチルベンゼンスルホニルオキシ基、4-メチルベンゼンスルホニルオキシ基、トリフルオロメタンスルホニルオキシ基、トリクロロメタンスルホニルオキシ基、トリメチルシリルオキシ基、トリエチルシリルオキシ基、*t*-ブチルジメチルシリルオキシ基、*t*-ブチルジフェニルシリルオキシ基などが挙げられる。

【0029】

Bにおける核酸塩基とは、天然型あるいは非天然型いずれの核酸塩基でも良く、たとえば1-チミン基、1-シトシン基、9-アデニン基、9-グアニン基、1-ウラシル基、5-フルオロ-1-ウラシル基、5-トリフルオロ-1-チミン基、5-メチル-1-シトシン基、6-クロロ-9-プリン基、2, 6-ジアミノ-9-プリン基、7-アデニン基、7-グアニン基、8-ブロモ-9-アデニン基、8-ブロモ-9-グアニン基、2-アミノ-9-プリン基、8-アザ-9-アデニン基、8-アザ-9-グアニン基、8-デアザ-9-アデニン基、8-デアザ-9-グアニン基などがあげられるがこれらに限定されるものではない。Bにおける保護された核酸塩基とは、天然型あるいは非天然型いずれの核酸塩基が保護されていても良く、保護基としては通常用いられるものであれば特に限定されない。保護基としては、たとえばアセチル基、イソブチリル基、ベンゾイル基、ジメチルアミノメチリデン基、ジブチルアミノメチリデン基、パルミトイル基、ベンジルオキシアセチル基などがあげられる。保護された核酸塩基としては、たとえばN4-ベンゾイル-1-シトシン基、N4-アセチル-1-シトシン基、N6-ベンゾイル-9-アデニン基、N2-イソブチリル-9-グアニン基などがあげられる。

【0030】

本発明の方法における反応溶媒としては、反応に影響を与えない限り特に限定

されるものではないが、アルコール類以外の非プロトン性溶媒が好ましい。たとえばアセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、THF、ジメトキシエタン、酢酸エチル、酢酸ブチル、ヘキサン、シクロヘキサン、トルエンなどがあげられる。また、これら溶媒の混合溶媒も使用できる。

【0031】

本発明の方法における反応温度としては、 -30°C から使用する溶媒の沸点までで行うことができる。特に好ましくは -10°C から 40°C の間である。

【0032】

反応剤の使用量としては、後処理に影響を与えない限り特に限定されないが、経済性を考えると、原料のモル量に対して0.8から1.5当量が好ましい。

反応活性化剤の使用量としては、原料のモル量に対して0.01から2当量が好ましく、0.1から1.5当量が特に好ましい。

【0033】

【実施例】

以下に実施例をあげて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらによって限定されるものではない。

実施例 1

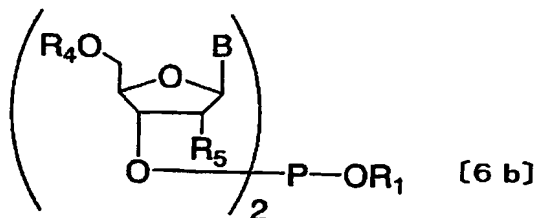
5'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシチミジン 3'-O-(2-シアノエチル N,N-ジイソプロピルフォスフォロアミダイト)の合成

5'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシチミジン(4-メチル-2-ペンタノンを含む) 2.0 g、脱水アセトニトリル 10 mLを混合し、室温で攪拌した懸濁液に、ビス-ジイソプロピルアミノ-シアノエチルフォスファイト 1.28 mL(原料のモル数に対して1.2当量)を滴下しさらに攪拌する。次いで5-フェニル-1H-テトラゾール 0.05 g(原料のモル数に対して0.1当量)を添加し、室温で8時間攪拌した。

本反応液を高速液体クロマトグラフ法(逆相カラム、溶離液:水/アセトニトリル 5/5 (TEAA 250 mM)、検出波長: 254 nm)にて分析した結果、収率 97%であった。表題化合物と一般式 [6b] で表される副成物

【0034】

【化15】



(式中、R₁は2-シアノエチル基を、R₄は4, 4'-ジメトキシトリチル基を、Bは1-チミジンを表す。)の比で表される反応選択性(表題化合物のHPLC面積%/副成物のHPLC面積%)は、451であった。

【0035】

比較例1および2

5'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシチミジン 3'-O-(2-シアノエチル N,N-ジイソプロピルフォスフォロアミダイト)の合成

実施例1と同様の手法で、5-フェニル-1H-テトラゾールの代わりに各々、テトラゾール0.024g(原料のモル数に対して0.1当量:比較例1)、ピリジン-トリフルオロ酢酸塩0.068g(原料のモル数に対して0.1当量:比較例2)を用いて反応を行った。8又は24時間後の反応液を高速液体クロマトグラフ法(逆相カラム、溶離液:水/アセトニトリル5/5(TEAA250mM)、検出波長:254nm)にて分析した結果を[表1]に示す。

【0036】

【表1】

	実施例1	比較例1	比較例2
反応選択性(8時間後)	451	265	281
収率(%、8時間後)	94	94	64
反応選択性(24時間後)	—	—	192
収率(%、24時間後)	—	—	82

【0037】

上記表1において、反応選択性=(表題化合物のHPLC面積%)/(副成物[6b]のHPLC面積%)

但し、副成物〔6b〕の式中、R1は2-シアノエチル基を、R4は4, 4'-ジメトキシトリチル基を、Bは1-チミジンを表す。

【0038】

実施例2

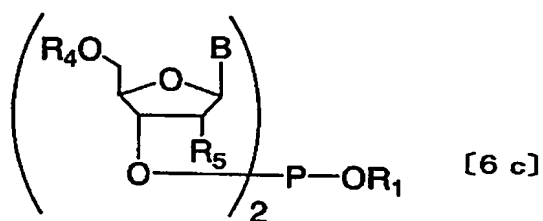
5'-O-ジメトキシトリチル-N6-ベンゾイル-2'-デオキシアデノシン 3'-O-(2-シアノエチル N, N-ジイソプロピルフォスファイト)の合成

5'-O-ジメトキシトリチル-N6-ベンゾイル-2'-デオキシアデノシン 2.0 g、脱水アセトニトリル 10 mLを混合し、室温で攪拌した懸濁液に、ビス-ジイソプロピルアミノ-シアノエチルフォスファイト 1.16 mL (原料のモル数に対して1.2当量)を滴下しさらに攪拌する。次いで5-フェニル-1H-テトラゾール 0.53 g (原料のモル数に対して1.2当量)を添加し、室温で2時間攪拌した。

本反応液を高速液体クロマトグラフ法(逆相カラム、溶離液:水/アセトニトリル 5/5 (TEAA 250 mM)、検出波長:254 nm)にて分析した結果、収率96%であった。表題化合物と一般式〔6c〕

【0039】

【化16】



(式中、R1は2-シアノエチル基を、R4は4, 4'-ジメトキシトリチル基を、BはN6-ベンゾイル-9-アデニンを表す。)で表される副成物の比で表される反応選択性(表題化合物のHPLC面積%/副成物のHPLC面積%)は、152であった。

【0040】

実施例3

5'-O-ジメトキシトリチル-N6-ベンゾイル-2'-デオキシアデノシン 3'-O-(2-シアノエチル N, N-ジイソプロピルフォスフォロアミダイト) の合成

実施例 2 と同様の手法で、5-フェニル-1H-テトラゾールの当量を変えて反応を行った。5-フェニル-1H-テトラゾール 0.04 g (原料のモル数に対して 0.1 当量) を用いて 24 時間攪拌した。

【0041】

本反応液を高速液体クロマトグラフ法 (逆相カラム、溶離液: 水/アセトニトリル 5/5 (TEAA 250 mM)、検出波長: 254 nm) にて分析した結果、収率 96% であった。表題化合物と一般式 [6c] で表される副成物の比で表される反応選択性 (表題化合物の HPLC 面積% / 副成物の HPLC 面積%) は、699 であった。

【0042】

実施例 4

5'-O-ジメトキシトリチル-N6-ベンゾイル-2'-デオキシアデノシン 3'-O-(2-シアノエチル N, N-ジイソプロピルフォスフォロアミダイト) の合成

実施例 2 と同様の手法で、5-フェニル-1H-テトラゾールの当量を変えて反応を行った。5-フェニル-1H-テトラゾール 0.22 g (原料のモル数に対して 0.5 当量) を用いて 8 時間攪拌した。

本反応液を高速液体クロマトグラフ法 (逆相カラム、溶離液: 水/アセトニトリル 5/5 (TEAA 250 mM)、検出波長: 254 nm) にて分析した結果、収率 97% (実施例 3) および 97% (実施例 4) であった。表題化合物と一般式 [6c] で表される副成物の比で表される反応選択性 (表題化合物の HPLC 面積% / 副成物の HPLC 面積%) は、785 であった。

【0043】

比較例 3~4

実施例 2 と同様の手法で、5-フェニル-1H-テトラゾールの代わりに各々、テトラゾール 0.256 g (原料のモル数に対して 1.2 当量: 比較例 3)、

ピリジンートリフルオロ酢酸塩 0.707 g (原料のモル数に対して 1.2 当量 : 比較例 4) を用いて反応を行った。96 時間後の反応液を高速液体クロマトグラフ法 (逆相カラム、溶離液: 水 / アセトニトリル 5 / 5 (TEAA 250 mM)、検出波長: 254 nm) にて分析した結果を [表 2] に示す。

【0044】

【表 2】

	実施例 4	比較例 3	比較例 4
反応選択性	785	49	91
収率 (%)	96	96	92

【0045】

上記表 2 において、反応選択性 = (表題化合物の HPLC 面積%) / (一般式 [6c] で表される副成物の HPLC 面積%)

【0046】

【発明の効果】

本発明により、大量製造可能な方法を用いて、従来の方法に比べ効率的に高純度のフォスフォロアミダイト類を製造することができるようになった。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 従来の方法で副成していたトリフォスファイト不純物の量を低減し、高純度のフォスフォロアミダイト製品を提供する。

【解決手段】 トリフォスファイトを生成しにくい反応活性化剤を使用し、過剰反応を抑えることでフォスフォロアミド類を高純度で得る。

【効果】 これまでトリフォスファイト不純物の生成を抑制することが困難であったが、フォスフォロアミド類を高純度で得ることが可能になった。

【選択図】 なし

特願 2002-357209

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000005887]

1. 変更年月日 1997年10月 1日
[変更理由] 名称変更
住 所 東京都千代田区霞が関三丁目2番5号
氏 名 三井化学株式会社
2. 変更年月日 2003年11月 4日
[変更理由] 住所変更
住 所 東京都港区東新橋一丁目5番2号
氏 名 三井化学株式会社